

Pertanian Jakarta. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *waterbath*, otoklaf, inkubator, timbangan analitik, tabung reaksi, *laminar air flow*, *colony counter* dan oven. Penelitian terdiri dari penelitian pendahuluan dan penelitian lanjutan. Penelitian pendahuluan adalah isolasi mikroba dari *puree* mangga yang telah rusak dan pembuatan kurva pertumbuhan untuk mengetahui akhir fase lognya (*late log phase = LLP*). Penelitian lanjutan meliputi uji ketahanan panas mikroba dan penghitungan nilai P.

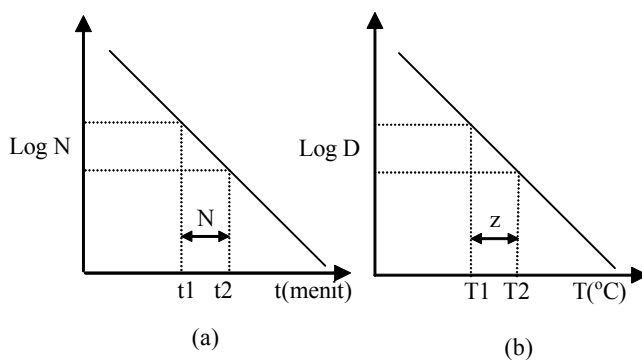
Dari penelitian pendahuluan diperoleh sembilan isolat mikroba yang terdiri dari dua isolat bakteri, empat isolat khamir dan tiga isolat kapang. Dua isolat yang dominan (jenis koloni mikroba yang banyak tumbuh dalam cawan petri pada waktu *plating*) dari masing-masing kelompok mikroba diambil dan dilakukan uji ketahanan panas pada fase *LLP*. Isolat-isolat yang diuji ketahanan panasnya adalah: bakteri koloni bulat kecil yang mempunyai gram positif dengan fase *LLP* adalah 11 jam disebut isolat bakteri A, bakteri koloni melebar gram negatif dengan fase *LLP* 11 jam disebut isolat bakteri B, khamir koloni bulat kecil dengan fase *LLP* 21 jam disebut isolat khamir C, khamir koloni bulat bermata dengan fase *LLP* 23 jam disebut isolat khamir E, kapang koloni abu-abu yang diduga adalah *Rhizopus sp* dengan fase *LLP* adalah 6 hari disebut isolat kapang G dan kapang koloni hitam yang diduga adalah *Aspergillus sp* dengan fase *LLP* adalah 5 hari disebut isolat kapang H.

Pengukuran ketahanan panas isolat mikroba dilakukan dengan menggunakan metode tabung (Yamazaki et al., 1997). Sebelum diuji ketahanan panasnya, masing-masing isolat bakteri ditumbuhkan dan diperbanyak pada medium cair NB untuk bakteri, sedangkan untuk kapang dan khamir diperbanyak pada medium PDB. Perbanyak bakteri pada medium cair NB dilakukan dengan menginokulasikan satu ose penuh

kultur bakteri ke dalam 10 ml NB steril lalu diinkubasikan pada suhu 37°C sesuai fase *LLP (late log phase)* yang dicapai pada masing-masing isolat mikroba pada pembuatan kurva pertumbuhan.

Prosedur pengujian ketahanan panas isolat mikroba adalah sebagai berikut: lima belas tabung reaksi bertutup berukuran sedang diisi dengan 9 ml *puree* mangga disterilisasi dalam otoklaf pada suhu 121°C, tekanan 15 psi selama 15 menit. Tabung-tabung segera didinginkan dalam air mengalir sampai tercapai suhu kamar dan ditambahkan 1 ml isolat mikroba secara aseptis dan di *vortex mixer* selama 2-3 menit. Uji ketahanan panas dilakukan secara terpisah untuk masing-masing isolat mikroba. Penghitungan jumlah mikroba juga dilakukan terhadap populasi mikroba yang secara alami ada dalam *puree* (tanpa melalui sterilisasi dan penambahan isolat) dengan perlakuan yang sama dengan uji ketahanan panas mikroba dalam bentuk tunggal. Penghitungan jumlah mikroba dilakukan terhadap kapang/khamir dengan media PDA dan bakteri dengan media NA. Tujuannya adalah untuk membandingkan ketahanan panas mikroba *puree* mangga ketika mikroba dalam keadaan tunggal sebagai isolat dalam *puree* mangga dan ketika mikroba berada dalam populasi pada *puree* mangga nonsteril. Caranya adalah dengan langsung mengisikan sebanyak 10 ml *puree* mangga yang tidak disterilisasi pada tabung reaksi bertutup. Pemanasan dilakukan pada *waterbath* dengan perlakuan suhu dan waktu *puree* 55,65,75 dan 85°C selama 5,10,15 dan 20 menit. Percobaan ini diulang sebanyak tiga kali, jumlah mikroba akhir diperoleh dari nilai rata-rata. Pengukuran suhu bagian dalam *puree* dilakukan dengan mencelupkan termometer langsung ke tengah-tengah *puree* kontrol. Setelah suhu kontrol *puree* tercapai maka dengan cepat tabung-tabung uji dimasukkan dalam *waterbath* dan ditunggu sampai waktu perlakuan. Suhu dipertahankan dengan menambah atau mengurangi air dalam penangas. Untuk masing-masing jenis mikroba, suhu dan waktu pemanasan yang berbeda dilakukan pengulangan sebanyak dua kali (*duplo*).

Setelah waktu pemanasan tercapai, tabung segera diangkat dan didinginkan dengan air dingin mengalir hingga mencapai suhu 30°C. Selanjutnya dilakukan pembiakan murni atau *plating* yaitu penanaman mikroba pada media yang sesuai pada seri pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-6} dengan perbandingan sampel dan pengencer adalah 1 ml berbanding 9 ml. Media yang digunakan adalah NA untuk menumbuhkan bakteri dan PDA untuk menumbuhkan khamir dan kapang. *Plating* dilakukan pada cawan petri yaitu dengan mengambil 1 ml sampel dan dituangi dengan media sampai membeku kemudian diinkubasi. Inkubasi dilakukan pada inkubator pada suhu 37°C untuk bakteri dan suhu kamar untuk kapang dan khamir selama 48 jam kemudian dilakukan penghitungan



Gambar 1. Penentuan nilai D dan nilai z a) Nilai D, b) Nilai z (Heldman dan Singh 2001).

Figure 1. Determination of D and z value a) D value, b) z value

jumlah koloni. Penghitungan jumlah koloni dilakukan untuk setiap jenis mikroba yang diuji pada masing-masing suhu dan waktu pemanasan, termasuk perhitungan jumlah sel awal (tanpa pemanasan).

Nilai D ditentukan dengan membuat plot antara waktu (t) dan log jumlah mikroba (log N) (Gambar 1a) dimana nilai D merupakan jarak antara t1 dengan t2 untuk satu siklus log, dan merupakan $|1/slope|$ dari kurva. Nilai z ditentukan dengan membuat plot antara log nilai D dan suhu (T) (Gambar 1b) dimana nilai z merupakan jarak antara T1 dengan T2, dan merupakan $|1/slope|$ dari kurva. Dari hasil uji ketahanan panas tersebut akan diperoleh bakteri yang mempunyai ketahanan panas paling tinggi dan digunakan untuk menghitung nilai P. Nilai P *puree* mangga dihitung pada setiap perlakuan kombinasi suhu 55, 65, 75, dan 85°C dan waktu pemanasan adalah 5,10,15 dan 20 menit. Nilai P dihitung dengan persamaan :

$$P = Lr \cdot t \dots\dots\dots(1)$$

$$Lr = 10^{(T-T_{ref})/z} \dots\dots\dots(2)$$

dimana, T adalah suhu *puree* mangga, T_{ref} merupakan suhu referensi pasteurisasi yaitu 85°C, sedangkan nilai z yang digunakan adalah nilai z dari mikroba yang paling tahan panas yaitu bakteri populasi alami dengan nilai z sebesar 52,91°C. Lr (*lethal rate*) adalah rata rata kematian mikroba per satuan waktu. Untuk menetapkan nilai P yang sesuai dengan standar 5D dimana target mikroba yang akan diturunkan adalah dari 10^6 menjadi 10^1 adalah dengan menarik garis horizontal pada sumbu Y yang mempunyai nilai 10^1 sampai memotong kurva dan ditarik garis vertikal sampai memotong sumbu X. Titik potong sumbu X adalah merupakan nilai P (Gambar 4). Dari nilai P tersebut dapat dibuat beberapa kombinasi suhu dan waktu pasteurisasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Ketahanan panas mikroba

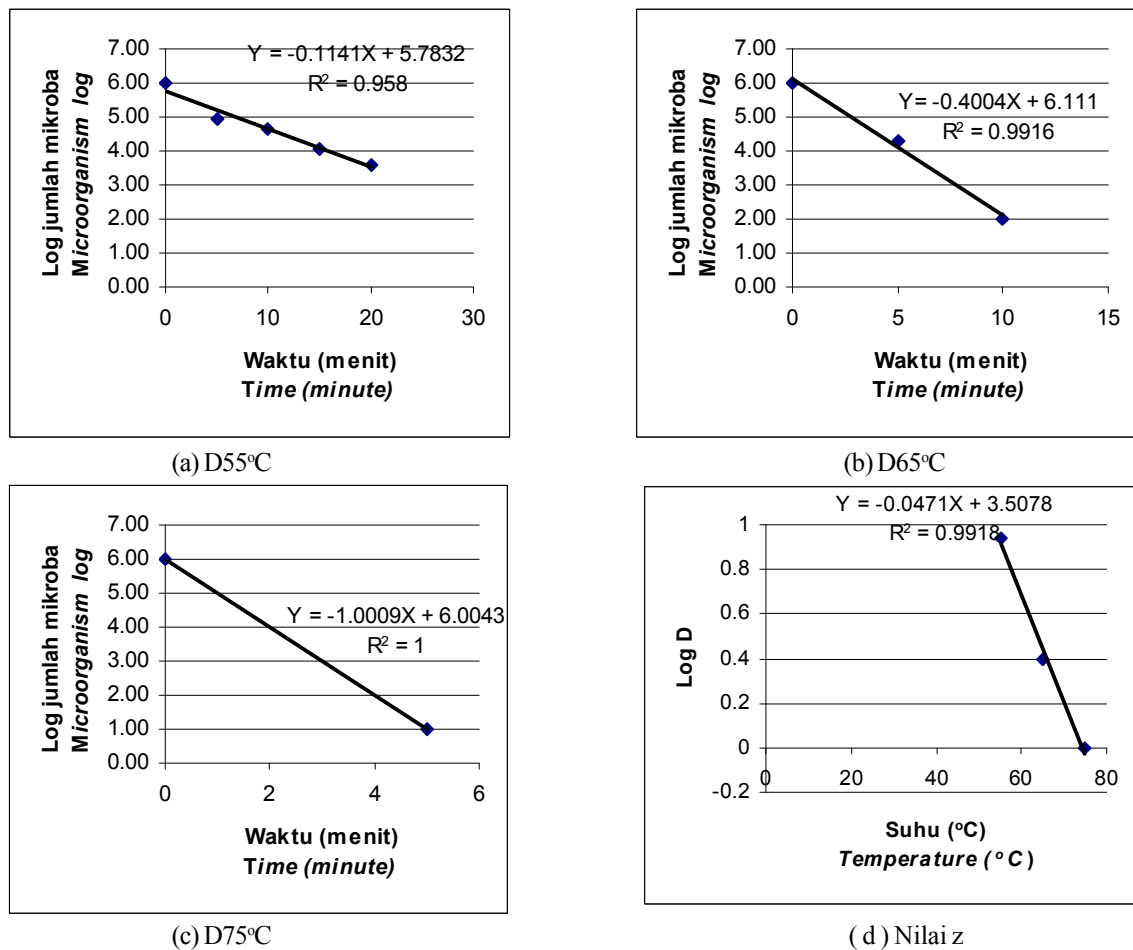
Proses pemanasan mempelajari hubungan antara pemanasan dengan optimasi proses, terutama dari segi keamanan pangan dan nilai gizinya (Toledo, 1991). Pemanasan yang diberikan pada bahan pangan adalah berbeda-beda tergantung pada beberapa hal diantaranya adalah jenis mikroba. Dalam menghitung ketahanan panas dibutuhkan data atau pengukuran, yaitu kurva TDT (*thermal death time*). Untuk mendapatkan kurva TDT (nilai z), sebelumnya dibuat kurva kematian mikroba untuk menetapkan nilai D. Penentuan nilai D dan z dilakukan terhadap isolat-isolat mikroba yang dominan tumbuh pada *puree* mangga, yaitu dua isolat bakteri, dua isolat khamir dan dua isolat kapang. Contoh hasil perhitungan dan penetapan nilai D dan z disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 2.

Ketahanan panas isolat bakteri

Ketahanan panas mikroba adalah kemampuan suatu mikroba untuk tetap bertahan (*survive*) pada saat memperoleh perlakuan panas yang dinyatakan dengan besarnya nilai D dan nilai z. Makin besar nilai D dan nilai z suatu mikroba makin besar pula ketahanan panasnya. Berdasarkan hasil perhitungan diperoleh bahwa isolat bakteri A mempunyai nilai D dan z lebih tinggi daripada isolat bakteri B (Tabel 2). Hal ini kemungkinan disebabkan karena isolat bakteri B adalah bakteri gram negatif, sedangkan isolat bakteri A adalah bakteri gram positif. Perbedaan struktur dinding sel menyebabkan perbedaan daya tahan bakteri terhadap gangguan lingkungan. Bakteri gram positif mempunyai dinding sel yang sangat tebal dimana 90% dari dinding selnya terdiri dari lapisan peptidoglikan, sedangkan lapisan tipis lainnya adalah asam teikoat (Fardiaz, 1992). Peptidoglikan terdiri dari asam N-asetil muramat dan N-asetil glukosamin serta ikatan-ikatan asam amino yang kuat. Faktor tersebut menyebabkan bakteri gram positif mempunyai ketahanan yang lebih baik terhadap gangguan fisik (panas) daripada bakteri gram negatif (Supardi dan Sukanto, 1999).

Nilai D_{55°C} isolat bakteri B pada *puree* mangga adalah 5,87 menit dan D_{65°C} adalah 1,2 menit, sedangkan nilai z nya adalah 15,04°C (Tabel 2). Nilai D_{55°C} isolat bakteri A pada *puree* mangga adalah 8,76 menit, D_{65°C} adalah 2,5 menit dan D_{75°C} adalah 0,99 menit sedangkan nilai z nya adalah 21,23°C.

Nilai D dan z tersebut di atas lebih tinggi dari pada yang disebutkan di pustaka, dimana Mazzota (2001), melaporkan bahwa nilai D_{56°C} *Salmonella* adalah 2,43 menit, D_{60°C} adalah 0,44 menit, D_{62°C} adalah 0,28 menit dengan nilai z sebesar 6,2°C dalam medium pemanasan jus anggur dengan pH adalah 3,9. Hal tersebut di atas terjadi karena adanya perbedaan medium pemanasan dimana *puree* mangga mempunyai konsistensi yang lebih pekat dari pada jus sehingga berpengaruh terhadap perambatan panasnya yang akan menjadi lebih lambat. Data lain yang menyebutkan bahwa medium pemanasan berpengaruh terhadap ketahanan panas mikroba adalah seperti yang dilaporkan oleh Mazzota dan Doyle (2000), bahwa *Salmonella typhimurium* pada medium TSB (*Triptic Soy Broth*) mempunyai nilai D_{55°C} sebesar 14 menit sedangkan pada medium phosphat D_{55°C} adalah 3,7 menit. Selanjutnya dikatakan bahwa belum banyak yang melaporkan ketahanan panas bakteri pada produk jus buah. Selain itu perbedaan ketahanan panas mikroba diduga karena adanya perbedaan galur, tipe percobaan, kondisi kultur dan dosis panas yang diterima.



Gambar 2. Penetapan nilai D dan nilai z isolat bakteri A

Figure 2. Determination of D and z value for isolated bacteria A

Ketahanan panas khamir

Nilai D55°C isolat khamir C adalah sebesar 7,94 menit, D65°C adalah 3,73 menit dan D75°C adalah 1,19 menit sedangkan nilai z nya adalah 24,39°C. Nilai ini lebih tinggi bila dibandingkan dengan isolat khamir E dimana nilai D55°C adalah 7,98 menit dan D65°C adalah 2,57 menit dengan nilai z sebesar 20,28°C (Tabel 2).

Seperti halnya yang terjadi pada isolat bakteri, isolat khamir ini juga mempunyai nilai D dan z yang lebih tinggi dari yang disebutkan di pustaka, seperti yang dilaporkan oleh Tchango *et al.*, (1997) bahwa pada media jus nenas (pH 3,95), *Candida pelliculum* mempunyai nilai D65°C sebesar 3,2 menit, D75°C sebesar 1,5 menit dan nilai z sebesar 31,75°C. Sedangkan pada *nectar* jambu biji (pH 3,15) mempunyai D65°C sebesar 2,49 dan nilai z sebesar 34,84°C.

Selain itu Shearer *et al.*, (2002), melaporkan bahwa nilai D dan z *S. cereviceae* juga bervariasi. Pada media jus apel (pH 3,9), nilai D57°C sebesar 32 menit, D60°C sebesar 6,9 menit, D63°C sebesar 2,1 menit dan nilai z sebesar 5,1°C. Sedangkan pada jus buah lainnya (pH 2,8), nilai D57°C adalah 9,4 menit, D60°C adalah 2,8 menit dan D63°C adalah

0,4 menit dengan nilai z sebesar 5,8°C. Pada 0,1 M buffer citrat (pH 4,0), nilai D60°C adalah 2,8 menit dengan nilai z sebesar 3,5°C. Garza *et al.* (1994), juga melaporkan bahwa D60°C dari *S. cereviceae* dalam *puree peach* (pH 3,9) adalah 0,53 menit. Namun demikian menurut Toledo (1991), khamir pada umumnya mempunyai nilai D121°C sebesar 0,00095 menit.

Dari data tersebut dapat dilihat bahwa nilai D dan z khamir adalah bervariasi tergantung dari galur, jenis media pemanasan maupun pHnya. Hal ini seperti yang dilaporkan oleh Mazzota dan Doyle (2000), serta Garza *et al.*, (1994) bahwa faktor-faktor yang menyebabkan perbedaan ketahanan panas mikroba adalah karena adanya perbedaan galur, media pemanasan, tipe percobaan, kondisi kultur dan dosis panas. *Puree* mangga hasil penelitian ini memiliki pH antara 4,12 – 4,2 yang mendekati pH dari jus nenas, sehingga nilai D untuk isolat khamir adalah mendekati hasil penelitian Tchango *et al.*, (1997).

Ketahanan panas kapang

Nilai D55°C isolat kapang H yang diduga sebagai *Aspergillus sp* adalah sebesar 29,59 menit, D65°C sebesar 5,92 menit, D75°C sebesar 2,12 menit dengan nilai z adalah

Tabel 1. Hasil perhitungan nilai D serta nilai z untuk isolat bakteri A

Table 1. D and z value for isolate of bacteria A

Suhu Pemanasan (°C) Heating Temperature (°C)	Waktu Pemanasan (menit) Heating Time (minute) (X)	Jumlah Bakteri ,N (koloni/gram) Number of bacteria, N (coloni/gram)	Log N (Y)	Persamaan Garis Lurus Y=aX+b Linear Equation Y = aX+b	Nilai D D= 1/a (menit) D value D= 1/a (minute)
55	0	1,0 x 10 ⁶	6,00	Y= -0,1141X+5,7832 Dimana : Slope (a) = -0,1141 R ² = 0,958	D _{55°C} =8,76 Log = 0,942
	5	8,2 x 10 ⁴	4,91		
	10	4,4 x 10 ⁴	4,64		
	15	1,2 x 10 ⁴	4,08		
	20	3,7 x 10 ³	3,57		
65	0	1,0 x 10 ⁶	6,00	Y= -0,4004X+6,111 Dimana : Slope (a) = -0,4004 R ² = 0,991	D _{65°C} =2,50 Log = 0,397
	5	2,1 x 10 ⁴	4,32		
	10	1,0 x 10 ²	2,00		
	15	-	-		
	20	-	-		
75	0	1,0 x 10 ⁶	6,00	Y= -1,0009X+6,0043 Dimana : Slope (a) = -1,0009 R ² = 1,00	D _{75°C} =0,99 Log = 0,00
	5	1,0 x 10 ¹	1,00		
	10	-	-		
	15	-	-		
	20	-	-		
85	0	1,0 x 10 ⁶	6,00	-	-
	5	-	-		
	10	-	-		
	15	-	-		
	20	-	-		

Nilai z dari 3 suhu pemanasan (55,65,75°C) sebagai sumbu X dan nilai log D (0,942; 0,397; 0,00) sebagai sumbu Y, maka diperoleh persamaan kurva TDT sebagai berikut:

$$Y = -0,0471X + 3,5078 \text{ dengan nilai } R^2 = 0,991$$

$$\text{Slope (a)} = -0,047$$

$$\text{Nilai } z = |1/a| = 21,23^\circ\text{C}$$

Z values for three heating temperatures (55, 65, 75°C) as X axis and log D (0.942; 0.397; 0.00) as Y axis, so $Y = -0.0471X + 3.5078$, $r = 0.997$

$$\text{Slope (a)} = -0.047$$

$$\text{Z value} = |1/a| = 21.23^\circ\text{C}$$

Keterangan : Tanda (-) adalah mikroba tidak tumbuh pada cawan

Remarks : Sign (-) means that microorganisms did not grow

17,48°C. Nilai ini lebih rendah dibandingkan dengan isolat kapang G yang diduga sebagai *Rhizopus sp.*, dimana nilai D55°C adalah 29,85 menit, D65°C adalah 9,86 menit, D75°C adalah 2,56 menit dengan nilai z sebesar 18,76°C (Tabel 2).

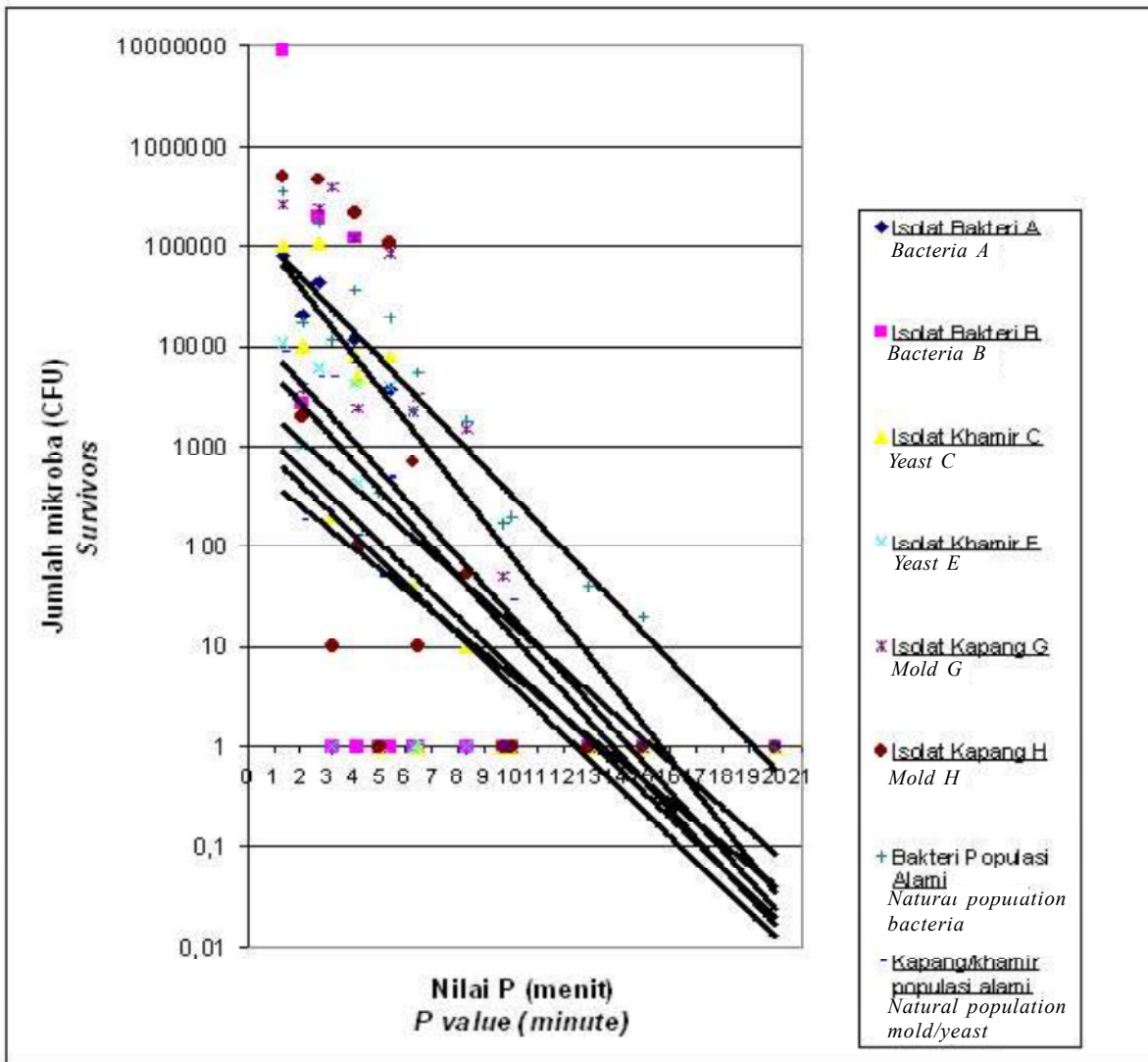
Hasil penelitian Shearer *et al.*, (2002) menyebutkan bahwa *A.niger* dalam medium pemanasan 0,1M buffer citrat (pH 4,0) mempunyai nilai D60°C sebesar 0,449 menit dengan nilai z sebesar 3,6°C. Sedangkan menurut Samson *et al.* (1981) nilai D60°C *A.niger* adalah 2,2 menit. Tingginya nilai D dan z isolat kapang dari puree mangga hasil penelitian diduga karena faktor media pemanasan seperti halnya pada bakteri dan khamir.

Ketahanan panas populasi mikroba alami pada puree mangga

Nilai D55°C populasi mikroba alami untuk bakteri adalah 12,92 menit, D65°C adalah 8,58 menit, D75°C adalah 4,96 menit dan D85°C adalah 3,7 menit dengan nilai z sebesar

52,91°C. Pada kapang dan khamir, nilai D55°C sebesar 11,90 menit, D65°C sebesar 7,29 menit, D75°C sebesar 4,31 menit dan D85°C sebesar 3,51 menit dengan nilai z sebesar 54,95°C (Tabel 2).

Nilai D dan z yang diperoleh dari perhitungan di atas menunjukkan bahwa mikroba puree mangga ketika berada dalam keadaan tunggal mempunyai ketahanan panas yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan populasi mikroba alami yang bercampur bersama-sama dengan mikroba lainnya dalam puree mangga. Hal ini terjadi akibat adanya kompetisi mikroba pada puree mangga sehingga berpengaruh terhadap toleransi panas yang diterima. Mazzota (2001), melaporkan bahwa kehadiran mikroba yang lain pada uji ketahanan panas *Salmonella* memberikan efek proteksi terhadap kerusakan panas. Selain itu disebutkan terjadinya perbedaan ketahanan panas antara mikroba tunggal/murni dan populasi mikroba alami adalah karena perbedaan karakteristik media, perubahan



Gambar 3. Hubungan linier antara nilai P dengan jumlah mikroba
 Figure 3. Linear correlation between P value and microorganism number

total padatan, keasaman dan A_w . Padatan yang tinggi dan pH rendah akan meningkatkan ketahanan panas mikroba. Hal ini dimungkinkan terjadi pada *puree* mangga, pada mikroba tunggal medianya adalah *puree* mangga yang melewati proses sterilisasi dulu sebelum ditambahkan isolat mikroba uji. Pemanasan pada proses sterilisasi mengakibatkan terjadinya penurunan viskositas oleh karena rusaknya pektin yang awalnya larut sehingga mengakibatkan transfer panas menjadi lebih cepat. Olle *et al* (1996), menyebutkan bahwa polisakarida yang larut pada *pulp* mangga adalah berupa senyawa pektin yang mempunyai derajat esterifikasi tinggi, selain itu senyawa pektin juga terdapat pada dinding sel *pulp* mangga.

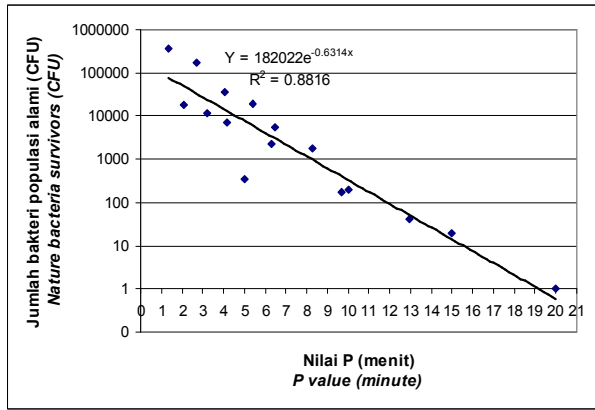
Perbedaan ketahanan panas antara mikroba tunggal dan populasi mikroba alami diduga juga berhubungan dengan metabolit sel dimana apabila jumlah mikroba besar maka metabolitnya juga besar. Menurut Fardiaz (1992),

metabolit ini biasanya berupa senyawa protein dimana protein bersifat melindungi bakteri terhadap panas karena protein adalah koloid yang menurunkan hantaran panas.

B. Perhitungan kecukupan panas (Nilai P)

Nilai P adalah waktu pemanasan pada suhu tertentu yang diperlukan untuk mencapai nilai pasteurisasi tertentu, dimana pada sterilisasi disebut nilai F. Nilai P dihitung untuk melihat kecukupan panas pada proses pasteurisasi. Dalam suatu industri pengolahan nilai P merupakan efisiensi untuk mengoptimalkan suatu proses.

Nilai P dihitung untuk setiap kombinasi suhu dan waktu perlakuan seperti yang terlihat pada Tabel 3. Nilai L_r ditetapkan dengan persamaan (2), sedangkan nilai P ditetapkan dengan persamaan (1). Tabel 3 menunjukkan bahwa makin besar suhu dan waktu pasteurisasi akan memberikan nilai P yang besar pula. Kisaran nilai P pada perlakuan kombinasi suhu dan waktu pasteurisasi *puree* mangga adalah berkisar antara 1,35 – 20 menit.



Gambar 4. Penetapan nilai P sesuai standar 5D.
Figure 4. Determination of P value following 5D standar

Nilai P perlu dihitung pada setiap kombinasi suhu dan waktu perlakuan untuk mengetahui besarnya nilai P yang mempunyai efek lethal terhadap mikroba dengan konsep 5D seperti yang tertera pada Tabel 4. Nilai P selanjutnya di plot dengan log jumlah mikroba setelah pemanasan untuk memperoleh grafik ketahanan panas seperti pada Gambar 3. Grafik menunjukkan bahwa pada setiap penambahan nilai P atau dosis panas tertentu berpengaruh terhadap laju penurunan mikroba baik isolat maupun populasi alami. Mikroba yang mempunyai

ketahanan panas rendah mempunyai grafik yang curam, sedangkan mikroba yang mempunyai ketahanan panas tinggi mempunyai grafik yang lebih landai. Dari penelitian ketahanan panas mikroba diperoleh bahwa mikroba yang paling tahan panas adalah bakteri populasi alami dengan nilai z adalah 52,91°C. Nilai z dari mikroba yang paling tahan panas ini selanjutnya dipergunakan untuk penghitungan nilai Lr (*lethal rate*) dalam penetapan nilai P. *Lethal rate* adalah rata-rata kematian mikroba per satuan waktu.

Untuk menghitung proses pemanasan pada pasteurisasi digunakan konsep 5D (Fellow, 1992). Karena jumlah mikroba awal dalam *puree* mangga adalah 10⁶ CFU, maka sesuai dengan dosis panas yang diberikan sebesar 5D diharapkan setelah pemanasan pada suhu dan waktu tertentu jumlah mikroba akan turun sebesar 5 siklus log yaitu menjadi 10¹ dimana nilai log-nya adalah satu. Setelah dilakukan penarikan garis vertikal pada sumbu Y pada angka 1 sampai memotong kurva (Gambar 4) maka diperoleh nilai pada sumbu X adalah 15,5 menit yang merupakan nilai P.

Dari nilai P yang diperoleh maka dapat dibuat beberapa kombinasi suhu dan waktu yang mempunyai nilai P sebesar 15,5 menit dengan persamaan (1) dan persamaan (2) yang hasilnya seperti terlihat pada Tabel 4.

Tabel 2. Rekapitulasi nilai D dan z mikroba *puree* mangga
Table 2. Recapitulation of D and z value of mango *puree* microbes

No	Mikroba <i>Microorganism</i>	Nilai D (menit) <i>D value (minute)</i>				Persamaan garis kurva TDT <i>Linear equation of TDT</i>	Nilai z <i>z value</i> (°C)
		D55°C	D65°C	D75°C	D85°C		
1	Bakteri <i>Bacteria</i>						
	- isolat bakteri A <i>isolated bacteria A</i>	8,76	2,5	0,99	-	Y= -0,0471X + 3,5078 R ² = 0,9918	21,23
	- isolat bakteri B <i>isolated bacteria B</i>	5,87	1,2	-	-	Y= -0,0665X + 4,4255 R ² = 1	15,04
2	Khamir <i>Yeast</i>						
	- isolat khamir C <i>isolated yeast C</i>	7,94	3,73	1,19	-	Y= -0,0412X + 3,1946 R ² = 0,9863	24,39
	- isolat khamir E <i>isolate yeast E</i>	7,98	2,57	-	-	Y= -0,0493X + 3,6135 R ² = 1	20,28
3	Kapang <i>Mold</i>						
	- isolat kapang G <i>isolate mold G</i>	2,85	9,86	2,56	-	Y= -0,0533X + 4,4257 R ² = 0,9968	18,76
	- isolat kapang H <i>isolate mold H</i>	29,59	5,92	2,12	-	Y= -0,0572X + 4,5772 R ² = 0,984	17,48
4	Mikroba populasi alami <i>Natural microorganism population</i>						
	- bakteri <i>bacteria</i>	12,92	8,58	4,96	3,7	Y= -0,0189X + 2,1455 R ² = 0,9885	52,91
	- khamir / kapang <i>yeast / mold</i>	11,9	7,29	4,31	3,51	Y= -0,0182X + 2,049 R ² = 0,9714	54,95

Keterangan/Remarks : Tanda - : Tidak bisa dihitung / uncountable

Tabel 3. Nilai P untuk kombinasi suhu dan waktu perlakuan
Table 3. P value for time and temperature combination

Waktu (menit) Time (minute)	Suhu (°C) Temperature (°C)			
	55	65	75	85
5	1,35	2,09	3,23	5
10	2,7	4,18	6,47	10
15	4,05	6,28	9,7	15
20	5,4	8,3	12,94	20

Tabel 4 menunjukkan bahwa nilai P sebesar 15,5 menit mempunyai banyak arti dimana pasteurisasi puree mangga dapat dilakukan pada setiap kombinasi suhu dan waktu seperti tersebut di atas. Setiap kombinasi suhu dan waktu tersebut akan mempunyai efek lethal yang sama terhadap mikroba karena mempunyai nilai P yang sama. Dalam aplikasi diperlukan pemilihan suatu kombinasi suhu dan waktu pasteurisasi yang optimal untuk memperoleh puree mangga yang bermutu baik.

Nilai P puree mangga hasil penelitian ini cenderung lebih tinggi daripada yang disebutkan di pustaka. Tucker et al.(2003), menyebutkan bahwa nilai P untuk produk buah-buahan dengan keasaman tinggi adalah 5 menit pada suhu 85°C dengan Tref adalah 85°C dan nilai z sebesar 10°C. Hal ini diduga karena perbedaan produk dimana puree mempunyai konsistensi yang pekat yang berpengaruh terhadap perambatan panas, adanya perbedaan ketahanan panas mikroba antara puree mangga dengan produk lainnya dimana untuk puree mangga nilai z mikroba adalah sebesar 52,91°C, sedangkan nilai z yang digunakan untuk perhitungan seperti yang dilaporkan oleh Tucker et al. (2003) adalah sebesar 10°C. Selain itu kemungkinan juga akibat dari ditiadakannya proses pengupasan pada proses pembuatan puree.

KESIMPULAN

1. Isolat-isolat mikroba yang telah berhasil diisolasi dari puree mangga yang telah rusak terdiri dari kelompok bakteri, kapang dan khamir.
2. Isolat bakteri A dengan nilai z sebesar 21,23°C mempunyai ketahanan panas yang lebih tinggi dari isolat bakteri B dengan nilai z sebesar 15,04°C, isolat khamir C dengan nilai z sebesar 24,39°C mempunyai ketahanan panas lebih tinggi dari isolat khamir E dengan nilai z sebesar 20,28°C, dan isolat kapang G dengan nilai z sebesar 18,76°C yang diduga golongan *Rhizopus sp* mempunyai ketahanan panas lebih tinggi dari kapang H yang diduga golongan *Aspergillus sp* dengan nilai z adalah 17,48°C.

Tabel 4 . Kombinasi suhu dan waktu yang mempunyai nilai P sebesar 15, 5 menit

Table 4. Time and temperature combination having P value of 15.5 minutes

Nilai P (menit) P value (minute)	Suhu (°C) Temperature (°C)	Waktu (menit) Time (minute)
15,5	70	29,80
15,5	75	23,95
15,5	80	19,26
15,5	85	15,50
15,5	90	12,46

3. Mikroba tunggal hasil isolasi mempunyai ketahanan panas lebih rendah daripada populasi mikroba yang secara alami terdapat pada puree mangga.
4. Bakteri populasi alami mempunyai ketahanan panas yang paling tinggi dengan nilai z sebesar 52,91°C. Nilai P yang sesuai dengan standar 5D adalah sebesar 15,5 menit, yang artinya bahwa agar tercapai nilai kecukupan panasnya maka proses pasteurisasi puree mangga sebaiknya dilakukan pada kombinasi suhu dan waktu yang mempunyai nilai P sebesar 15,5 menit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya disampaikan kepada Prof. Dr. Ir. M. Aman Wirakartakusumah dan Dr. Ir. Purwiyatno Hariyadi yang telah banyak memberikan bimbingan dan masukan. Ucapan terimakasih juga disampaikan pada proyek PAATP yang telah memberikan dana untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Broto,W. 2003. Mangga: budidaya, pascapanen dan tata niaganya. Jakarta :Agromedia Pustaka. Halaman 2.
- Ejechi, B.O., J.A. Souzey and D.E. Akpomedaye. 1998. Microbial stability of mango (*Mangifera indica L*) juice preserved by combined application of mild heat and extracts of two tropical spices. *J. Food Protection* 61:725-727.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi pengolahan pangan lanjut. Bogor: PAU Pangan dan Gizi IPB. Halaman 131-132.
- Fellow, P.J. 1992. Food processing technology. New York : CRC Press.
- Garza, S, J.A. Teixido, V. Sanxchis, I. Vinas and S. Condon. 1994. Heat resistance of *S.cereviceae* strains isolated from spoiled peach puree. *J.Food Micro* 23:209-213.
- Heldman,D.R and R.P. Singh. 2001. Introduction to food engineering. London: Academic Press.Halaman 334-339.
- Mazzota, S and M.E. Doyle. 2000. Review of studies on the thermal resistance of *Salmonellae*. *J.Food Protection* 63:779-795.
- Mazzota, A.S. 2001. Thermal inactivation of stationary-phase and acid adapted *E.coli* O157:H7, *Salmonella*, and *L.monocytogenes* in Fruit juices. *J. Food Protection* 64:315-320.

- Olle, D, A. Baron, F. Lazano and J.M. Brillouet 1996. Enzymatic degradation of cell wall polysaccharides from mango puree. *J. Agric. Food Chem* 48 : 2713-2716.
- Shearer, A.E, A.S. Mazzota, R. Chuyate and Gombas. 2002. Heat resistance of juice spoilage microorganism. *J. Food Protection* 65:1271-1275.
- Supardi, I dan Sukamto. 1999. Mikrobiologi dalam pengolahan dan keamanan pangan. Bandung: Alumni. Halaman 37-54.
- Tchango, J.T, R. Tailliez, P.Njine and J.P. Honez. 1997. Heat resistance of spoilage yeast *C.pelliculosa* and *K.apis* and pasteurization values for some tropical fruit juices and nectars. *J. Food Micro.* 14:93-99.
- Toledo, R.T. 1991. Fundamentals of food process engineering 2nd edn. New York :Chapman & Hall.
- Tucker, G.S, T. Lambourne, J.B.Adams and A.Lach. 2003. Application of a biochemical time-temperatur integrator to estimate pasteurisation values in continuous food processes. *J. Innovative Food Science & Emerging Tech* 3 :165-174.
- Umme, A, B.A. Asbi, Y. Salmah, A.H. Junainah and B. Jamilah. 1997. Characteristics of soursop natural puree and determination of optimum conditions for pasteurization. *J. Food Chemistry* 58 :119-124.
- _____. 1999. Microbial and enzymatic changes in natural soursop puree during storage . *J. Food Chemistry* 67:315-322.
- _____. 2001. Effect of pasteurization on sensory quality of natural soursop puree under different storage conditions. *J. Food Chemistry* 75: 293-301.
- Yamazaki ,K, Y. Kawai, N. Inoue and H. Shinano. 1997. Influence of sporulation medium and divalent ions on the heat resistance of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores. *Letters in Appl. Micro.* 25:153-156.